

货号: ZC-A0272

规格: 200T

磷酸钙法细胞转染试剂盒

产品简介:

Zcibio 磷酸钙法细胞转染试剂盒(Calcium Phosphate Cell Transfection Kit), 在传统的磷酸钙细胞转染方法的基础上进行了改良, 提高了转染效率, 并降低了毒性。外源基因导入真核细胞的方法有很多种, 如磷酸钙转染法、DEAE-葡聚糖转染法、脂质体法、电穿孔法、显微注射法等。Zcibio 磷酸钙法细胞转染试剂盒(Calcium Phosphate Cell Transfection Kit)是在传统的磷酸钙细胞转染方法的基础上进行了改良, 提高了转染效率, 并降低了毒性, 可用于磷酸钙法转染细胞, 不仅可以瞬时表达, 也可以筛选稳定株。HEK293 是最适合磷酸钙法转染的细胞之一, 优化条件后转染效率可以高达 85%以上, 一般的转染效率可达 40~50%左右。其他常见细胞(例如 Hela、CHO 细胞等)也适合磷酸钙法转染, 但效率比 293 细胞要略低一些。本转染试剂盒主要适合于大多数贴壁细胞的转染, 也可于一些悬浮细胞的转染, 一般要求 DNA 浓度在 10~50 μg 为宜, Hela、BALB 等细胞沉淀放置 16h, CHO、DUKX、BII 等细胞可以通过甘油、DMSO 进行热休克处理以提高转染效率。

产品组成:

名称	编号	200T	Storage
试剂(A): Calcium chloride solution		20ml	-20°C
试剂(B): BBS solution		20ml	-20°C
使用说明书		1 份	

自备材料:

1. 胰蛋白酶消化液
2. 完全培养基
3. PBS
4. 无菌水

操作步骤 (仅供参考)

(一) 贴壁细胞转染:

1. 在转染前 24h 用胰蛋白酶消化液培养细胞, 取适量对数期细胞转移至新的培养皿中, 待细胞密度达到 70~80% 即可进行转染。后续操作步骤均按 6 孔板计算, 如果转染器皿不同, 请按比例自行调节用量。
2. 再加入 DNA 之前 2~4h, 加入 2ml 不含抗生素的完全培养液, 置于 37°C 5% CO₂ 培养箱培养。
3. 取 2~6 μg DNA (体积不宜超过 20 μl) 加入 100 μl Calcium chloride solution 混匀, 即为 DNA-CaCl₂ 溶液。
4. 取 BBS solution 100 μl , 用移液器一边吹打 BBS solution, 一边逐滴加入 DNA-CaCl₂ 溶液 (操作缓慢, 一般在 1~2min)。
5. 室温静置 20~30min, 即为 DNA-CaCl₂-BBS 溶液, 此时可能出现极其微小颗粒沉淀。
6. 取 DNA-CaCl₂-BBS 溶液底部物质均匀加入到 6 孔板细胞中, 轻轻晃动混匀。
7. 置于 37°C 5% CO₂ 培养箱培养 4~16h, 如果培养细胞为 CHO, DUKX 等, 可以 DMSO 或甘油进行休克处理, 转染效率会大大增加, 即培养 4~6h 后, 用 2ml 含有 10%甘油或 20%DMSO 的完全培养液替换当前培养液, 室温下静置 3min, 加 5mlPBS 摇动混匀。
8. 去除培养液, 用 PBS 清洗细胞 2 次, 加入 2ml 完全培养液继续培养, 一般 24h 后可见转染细胞的表达。

(二) 悬浮细胞转染:

1. 低速离心收集悬浮细胞，用 PBS 洗涤 1 次。
2. 取 2-6ug DNA (体积不宜超过 20ul) 加入 100ul Calcium chloride solution 混匀，即为 DNA-CaCl₂ 溶液。
3. 取 BBS solution 100ul，用移液器一边吹打 BBS solution，一边逐滴加入 DNA-CaCl₂ 溶液 (操作缓慢，一般在 1-2min)。
4. 室温静置 20-30min，即为 DNA-CaCl₂-BBS 溶液，此时可能出现极其微小颗粒沉淀。
5. 每 10⁶ 个细胞沉淀用 100ul DNA-CaCl₂-BBS 溶液重新悬浮，室温放置 20-30min。
6. 6 孔板每孔加入 2ml 不含抗生素的完全培养基，取 DNA-CaCl₂-BBS 溶液底部物质均匀加入到 6 孔板中，轻轻晃动混匀。
7. 置于 37℃ 5% CO₂ 培养箱培养 4-16h，去除培养液，用 PBS 清洗细胞 2 次，加入 2ml 完全培养液继续培养，一般 24h 后可见转染细胞的表达。

注意事项:

1. 注意无菌操作，尽量避免污染，同时 DNA 不应含有蛋白和酚。
2. 休克处理某些细胞系会使转染效率大大提高，但应注意甘油暴露过久易导致细胞死亡。
3. 转染 12-24h 后，可以加入浓度为 10mmol/L 的丁酸钠溶液，可以提高病毒滴度。
4. BBS solution 的 PH 值直接关系到转染效率，尽量避免长时间暴露再空气中，以免被空气中的二氧化碳碳化。

有效期: 6 个月有效。